

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

ÇEVRE VE ENERJİ TEKNOLOJİLERİ YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

TAKIM ADI: TACBiotech

PROJE ADI: *Sorghum bicolor* bitkisi özütünden *Clostridium butyricum* ve rekombinant *Enterobacter aerogenes* ile Agaroz Jel Membranlı Mikrobiyal Yakıt Pili Hücresinde Elektrik Üretimi

BAŞVURU ID: 360330 (TACBiotech)

TEKNOFEST
HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

İçindekiler

1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Ülke olarak bizimde oyunun içinde oyuncu olduğumuz elektrikli araç sektörünün enerji ihtiyacı, karbon döngüsünü bozmayan ve doğaya zarar vermeyen kaynaklardan üretilebilir. Tatlı sorgum (*Sorghum bicolor*) bitkisi ise dünyadaki en ucuz şeker kaynağıdır. 20 m² alana yaptığımız sorgum bitkisi ekimi sonucunda 6 litre özüt elde edilmiştir. Bu çalışma kapsamında; agaroz jel membranlı ‘Mikrobiyal Yakıt Hücreleri’ (MYH) dizayn edilip, üç boyutlu yazıcılar yardımıyla üretilmiştir. MYH 'nin anod bölmesine, biyohidrojen üreten mikroorganizmalar ile bunların besini sorgum özütü entegre edilir ve üretilen protonun agaroz membrandan geçerek katoda ulaşması ile elektrik enerjisi elde edilir.

2. Problem/Sorun:

Sorghum bicolor bitkisinden mikroorganizmalar yardımıyla Mikrobiyal Yakıt Hücrelerinde (MYH) üretilen elektrik ile ülkemizin; dışa bağımlılığını azaltarak, kendi kendine yetebilecek enerji üretim kapasitesine sahip olabilmesi, ülke ekonomisine ciddi oranda katkıda bulunabilmesi, enerji tarımının geliştirilmesi amaçlanmıştır. Projemiz ile çevre dostu elektrik üreterek ülkemizin yerli otomobiline destek vermek istiyoruz. TOGG yerli otomobilimiz ve birçok ülkede 2030lardan sonra sadece elektrikli otomobillere yollarda izin verilecek olması bizi buna inandırmıştır.

3. Çözüm

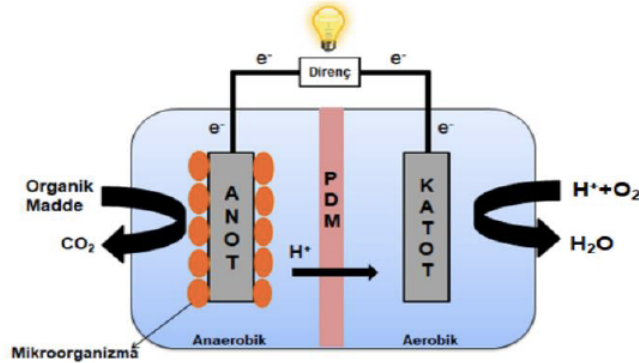
Okulumuzda 20 m² lik alandan, 90 günde ve ilk hasatta Sorgum sudan otundan dişli çarklar kullanılarak yaklaşık 6 lt. bitki özütü elde edilmiştir. Okulumuzun robotik kulübünden de destek alarak mikrobiyal yakıt pili kalıplarını elektronik ortamda çizerek 3D yazıcılardan çıktı aldık. Yakıt ve hava giriş-çıkışları ile elektrik çıkışına dikkat ederek, sızdırmaz bir sistem oluşturmaya çalıştık. Yakıt pili hücresinde proton değişim membranı olarak agaroz jel kullandık. Daha sonra sorgum bitkisi özütünden karanlık fermantasyon prosesi ile hidrojen üretilip mikrobiyal yakıt pili hücresinden 1V elektrik elde ettik.

Yakıt hücresi pilleri temiz, çevreyi kirleten atık madde ürünleri çıkarmayan yüksek verime sahip enerji teknolojisidir. Yakıt pili yakıtın enerjisini elektrokimyasal reaksiyon sonucunda doğrudan elektrik enerjisine dönüştürür. Yakıt pili teknolojisinin diğer alanlara oranla daha fazla uygulamada yer bulduğu sektör otomobil sektörüdür. Bu sektörde bulunan hemen hemen bütün firmaların yakıt pilleriyle çalışan arabaları mevcuttur (Yılmaz, A., Ünvar, S., Ekmen, M. ve Aydın, S., 2017). (EK-1)

MYH'ler ise, genellikle, organik atıklarda mevcut olan kimyasal enerjiyi mikroorganizmalardan faydalanarak elektrik enerjisine dönüştüren sistemler olarak ifade edilmektedir [Gezginci, 2013:48; Taşkan, 2013:271). Tipik olarak bir MYH; anot ve katot olarak isimlendirilen iki bölümden ve bu bölümleri birbirinden ayırmaya yarayan bir proton dönüştürücü zarı meydana gelmektedir. Anot bölümüne entegre edilen mikroorganizmalar bu bölümdeki organik maddeleri indirgeyerek açığa elektron ve proton çıkışı sağlamaktadırlar. Bu bölümde açığa çıkan elektronlar, sisteme kombine edilen bir devre aracılığıyla elektrot üzerinden katot bölümüne geçmektedirler. Proton (hidrojen) ise, proton dönüştürücü bir zar yardımıyla katot bölümüne

geçerek bu bölümde oksijen veyahut farklı bir elektron alıcısı ile birleşmekte böylece de açığa su çıkmaktadır. İyi bir elektron alıcısı olan oksijenin mevcudiyeti ve + elektrik yükünü temsil eden hidrojen atomları sayesinde, anot bölümünde bulunan elektronlar katot bölümüne doğru geçmektedirler bu durum sistem devresi üzerinde bir elektrik akımı meydana getirmektedir (He ve Angenent, 2006:18; He vd., 2008:74; Mohan vd., 2008:33).

Resim-1 MYH'lerin çalışma prensibi (Ghangrekar, M. M., Shinde, V. B., 2007, Performance of Membrane-Less Microbial Fuel Cell Treating Wastewater and Effect of Electrode Distance and Area On Electricity Production. Bioresource Technology, Vol. 98, 2879-2885.)



Yukarıdaki literatür taramalarında da görüldüğü gibi Şeker Sorgum Otu üretim ucuz ve verimli bir biokütledir. Gelişmiş kök yapısı sayesinde gübre ve su isteği azdır. Bol güneşli bölgemizde senede 3 kez hasat edilebilir, mikroorganizmalar için iyi bir substrattır. MYH'ler ise; yeşil, güvenli, temiz ve herhangi bir organik atığı elektriğe dönüştüren direkt bir kaynak olarak kabul edilmektedirler (Li vd., 2016:205; Rikame vd., 2012:75).

4. Yöntem

Bilindiği üzere ülkemiz enerji temininde kullandığı fosil yakıtlar açısından zengin değildir. Fosil yakıtların kullanımını ise çevreye geri dönüşü olmayan zararlar vermektedir. Enerji üretiminde hem dışa bağımlılığı hem de karbon salınımı azaltmak için güneş, rüzgar, hidrolik, jeotermal, hidrojen ve biyokütle enerjisi gibi ülkemizin avantajlı durumda olduğu yenilenebilir enerjiye yatırım artırılmalıdır.

Bu süreçte, güneşin bol olduğu akdeniz bölgesinde enerji bitkisi yetiştirilmiş ve bu bitkiden yakıt pili sistemlerinde elektrik elde edilmiştir.

Hazırlama;

Okulumuz bahçesinde bulunan yaklaşık 10 m² 'lik iki farklı alan, bitki ekimine hazırlanmıştır. Her iki alanda da çapa yapılmış toprak havalandırılmıştır. Alanlardan birine 'kırmızı kaliforniya solucanı' (*Eisenia fetida*) yardımıyla oluşturduğumuz kompost serpilmiştir.

Gübre bitki üzerindeki etkisini gözlemleyebilmek için diğer alana gübre takviyesi yapılmamıştır. Sıcaklığın 22 oC ve pH değerinin 5,5 civarı olduğu toprağa Mayıs-2019 başında, serpme yöntemiyle sorgum sudan otu tohumu ekilmiştir. Sorghum X sudan otu melezinin, sahil kesiminde en az 3 defa biçilebilmesi ve yüksek şeker oranıyla ekonomik olduğu söylenebilir. (S. Çeçen, M. Öten, C. Erdurmuş 2005)

Tohumların ekiminden sonra 2019- Haziran ayının ikinci haftasına kadar, haftada bir kulüp dersi saatlerinde kuyu suyuyla sulama yapılmıştır. Sorgum sudan otuna yaz tatili boyunca detaylı bir

bakım yapılmamış, ayda 1 ya da 2 defa okulumuz çalışanları tarafından sulama yapılmıştır. Okul sezonu başında (2019-Eylül ayında) ilk hasat yapılmıştır. Bitki hasadından sonra yaprakları ve tohum bölümü kesilerek gövdeden uzaklaştırıldı. Tamamen sap haline gelen bu gövde dişli iki silindir arasında sıkılarak özsuyu çıkarıldı, filtre edilip buharlaştırıldı.

20 m2 lik alandan, 90 günde ve ilk hasatta Sorgum sudan otundan dişli çarklar kullanılarak yaklaşık 6 lt. bitki özütü elde edilmiştir.

Resimler-2 Sorgum sudan otu ile çalışmalar



Resimler-3 Sorgum sudan otu ve özütü



Yakıt Pili Hücresi Tasarımı;

Çeşitli yakıt pili hücreleri dizayn ederek bu tasarımları okulumuzda bulunan üç boyutlu yazıcılarda bastık.

Proton Değişim Membranlı (PEM) yakıt hücresinde anot tarafına hidrojen verilirken, katot tarafına hava verilir. Anotta hidrojen elektronlara ve protonlara ayrılırken bu işlem bir katalizör (bakır plakalar kullanılmıştır) varlığında gerçekleştirilmektedir. Üretilen protonlar, proton iletken elektrolitten (Agaroz jel membran kullanılmıştır) geçerken elektronlar dış devreden dolaşır; bağlı bir cihaza güç verir ve katoda (çinko plakalar kullanılmıştır) ulaşarak oksijeni indirger. Katotta protonlar oksijen ile birleşerek su oluşturur. (Kraytsberg, A., Ein-Eli, Y. 2014. "Review of Advanced Materials for Proton Exchange Membrane Fuel Cells," Energy and Fuels, 28(12), 7303–30.)

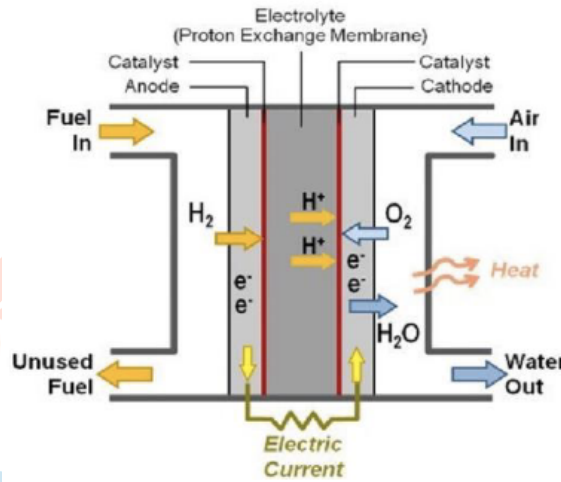
Anot reaksiyonu: $H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$

Katot reaksiyonu: $O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$

Toplam reaksiyon: $2H_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O + ısı + elektrik enerjisi$

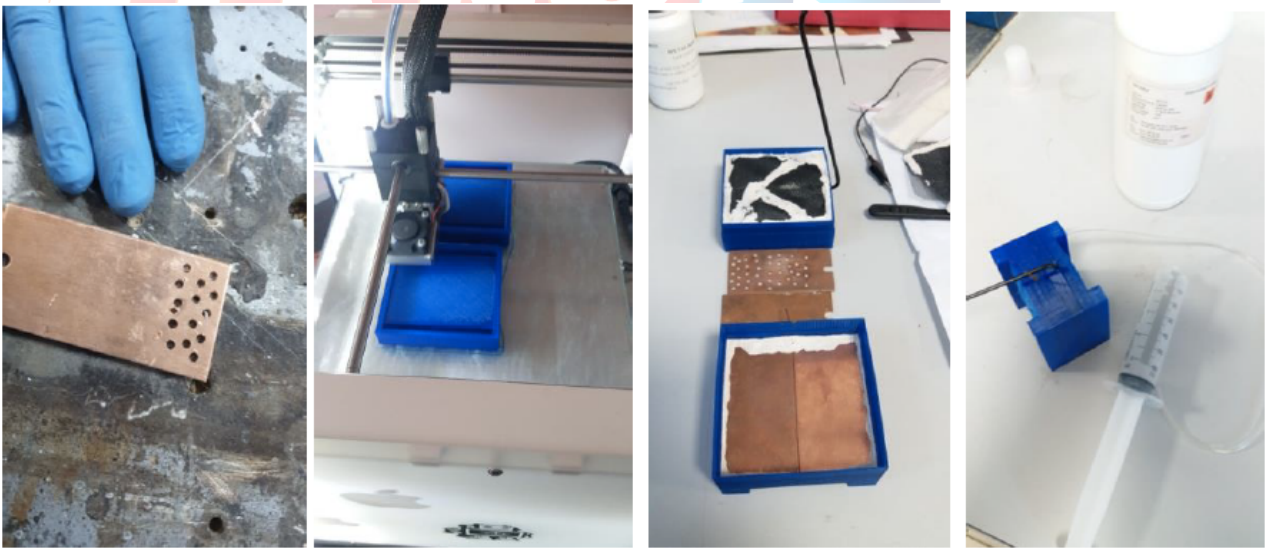
(Karanfil, Mühendis ve Makina cilt 61, sayı 698, s. 57-76, 2020 Araştırma Makalesi, www.dergipark.org.tr)

Resim-4 Örnek aldığımız Yakıt Pili Hücresi Şablonu



Okulumuzun robotik kulübünden de destek alarak yakıt pili kalıplarını elektronik ortamda çizerek 3D yazıcılardan çıktı aldık. Yakıt ve hava giriş-çıkışları ile elektrik çıkışına dikkat ederek, sızdırmaz bir sistem oluşturmaya çalıştık.

Resimler-5 Kendi tasarımıımız yakıt pili hücresi (Sırasıyla; anot ve katot plakalara delik açılması, 3D yazıcıda basım, plakaların yerleştirilmesi, kapalı sistem yakıt pili hücresi)



Proton değişim membran yakıt hücrelerinin en önemli elemanı proton iletim özelliğine sahip polimerik membrandır. Yakıt hücreleriyle ilgili yapılan çalışmaların başında polimerik membranların geliştirilmesi ile ilgili olan çalışmalar yer almaktadır. Günümüzde ticari olarak

kullanılan membranların çeşitliliğinin az ve fiyatlarının yüksek olmasından dolayı alternatif membranların geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar oldukça hızlanmıştır. Proton değişim membran yakıt hücrelerinde kullanılan membranların;

- Proton geçirgen özellikte olması,
- Su, yakıt (hidrojen veya metanol), oksijen ve havadaki diğer gazları geçirmemesi,
- Mekanik dayanımının yüksek olması,
- Uzun süreli kullanımda ısıl ve kimyasal direnci yüksek,
- Teknolojik olarak yaygın bir şekilde kullanılabilmesi için emniyetli ve ucuz olması gerekmektedir.

(<https://yunus.hacettepe.edu.tr/~yilser/protondegisim.htm>)

Yukarıda bahsedilen literatür bilgisinde görüldüğü gibi proton değişim membranı olarak genelde kullanılan Nafion membran, hem pahalı oluşu hemde yurt dışı menşeli firmalardan temin edilmesi sebebiyle ulaşılması zor bir üründü. Bu ürün yerine Agaroz jel membran kullandık.

Agaroz Jelin Hazırlanması;

- 1 gr agaroz, 1ml 50xTAE buffer ve 98ml saf su bir erlenmayer de karıştırılarak, ağzı alüminyum folye ile kapandı.
- Karışım, 100 oC de bulunan su banyosunda agaroz tamamen çözünene kadar bekletildi.
- Hazırlanan agaroz jel Cu plakaların bulunduğu parçaya yavaşça döküldü.
- Agaroz jel soğuduktan sonra Zn bulunduran diğer parça ile birleştirildi ve sızdırmaz bir Fuelcell sistemi oluşturuldu.

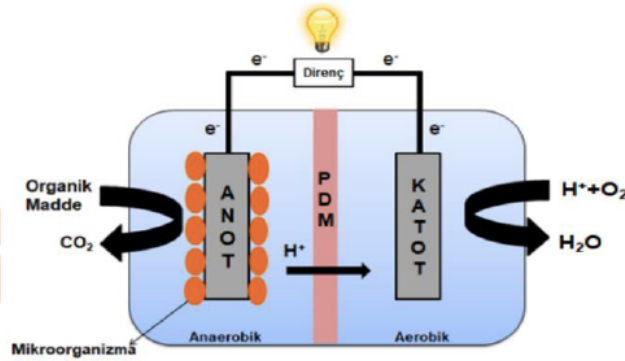
Resimler-6 Agaroz jelin yakıt pili hücresi sisteminde kullanılması



Bu sistemde direk etanol yakıt hücresi pili kullanmış ve 1V elektrik elde etmiştik. Geçen yıl TÜBİTAK bölge finallerinde elenmiştik. Projemizin bu bölümünden sonrasında hidrojen kaynağı olarak biyoetanol yerine, sorgum özütünden karanlık fermantasyon prosesi ile hidrojen üretilip mikrobiyal yakıt pili hücresinden elektrik üreteceğiz. Fermantasyon yolizine ve en son ürüne bağlı olarak glukozdan farklı miktarda hidrojen üretilir. Laboratuvar denemelerinde

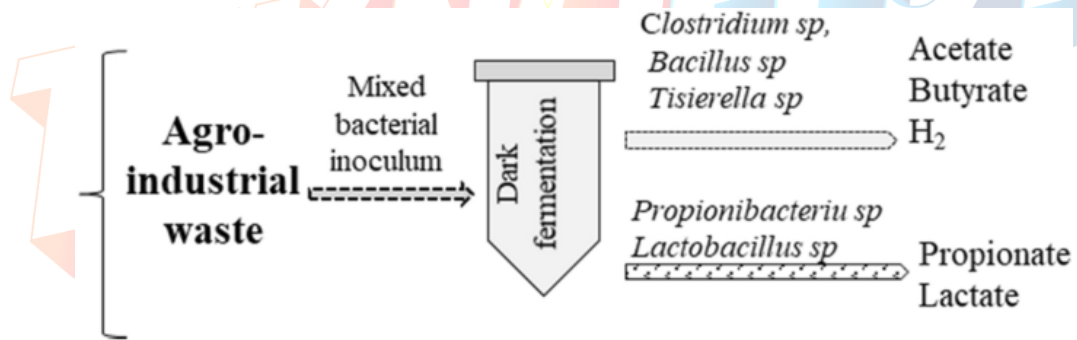
hidrojen üretim hızı 77 mmol/saat L olarak elde edilmiştir. (Manish, S. ve Banerjee, R., Comparison of biohydrogen production processes, International Journal of Hydrogen Energy, 33, 279-286, (2008). Mikrobiyal yakıt hücreleri (MYH) genellikle proton değişim membranı ile ayrılan anot ve katot bölmelerinden meydana gelmektedir. (Ghangrekar, M. M., Shinde, V. B., 2007, Performance of Membrane-Less Microbial Fuel Cell Treating Wastewater and Effect of Electrode Distance and Area On Electricity Production. Bioresource Technology, Vol. 98, 2879-2885.)

Resim-7 MYH' lerin çalışma prensibi (Dege, Daniş, Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi, Sayı 3(3): 128-140 2020)



Yukarıdaki literatür bilgilerine dayanarak, daha önce elde ettiğimiz yakıt pili sisteminin anot bölümüne koyacağımız mikroorganizma karışımı (*Clostridium butyricum* ve rekombinant *Enterobacter aerogenes*) ile karanlık fermentasyon prosesi sayesinde en az 1V elektrik elde edeceğimizi düşünüyoruz.

Resim-8 (Ochoa, Hernandez, Bayona, Cabeza, Candela 2021 Value-Added By-Products During Dark Fermentation of Agro-Industrial Residual Biomass: Metabolic Pathway Analysis)



-acetic acid fermentasyonu,
 $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$

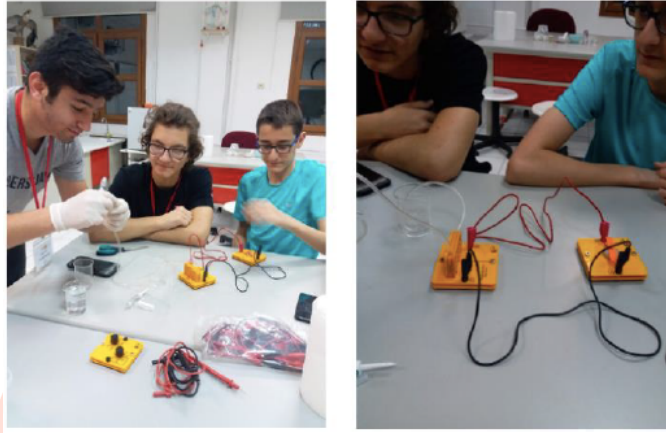
-butyric acid fermentasyonu,
 $C_6H_{12}O_6 + CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$

Geçtiğimiz yıl pandemi koşulları sebebiyle ziyaret edemediğimiz Mersin üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne giderek, mikroorganizmaların temini ve karanlık fermentasyon prosesi ile ilgili bilgi almak amacıyla ziyaret planımızı yaptık.

Elektirik üretimi;

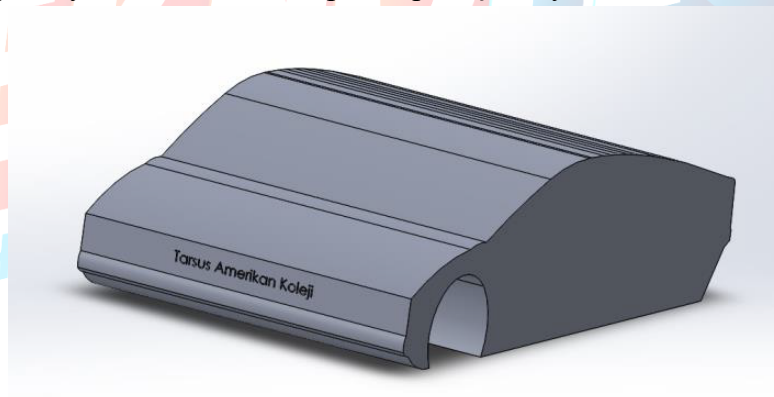
Daha önce elde ettiğimiz etanolü %15 saflığa getirerek elimizde bulunan hazır DEFC (Direk Etanol Yakıt Pili) sisteminde elektriğe dönüştürmüştük. Şırınga yardımıyla beslediğimiz sistemde etanol, membrandan geçerken elektrik enerjisine dönüştü ve pervaneyi döndürmüştü.

Resim -9 Direk etanol yakıt pili sistemiyle elektrik üretimi



Bu projeden yola çıkarak mikrobiyal yakıt pili sisteminde de en az 1V elektrik üretmeyi planlıyoruz. Prototip araç dizaynı ve üç boyutlu yazıcıda basılması; Projemizdeki sistemi resim-10 daki araç kabuğunun içine yerleştireceğiz. Aracın tasarımını AutoCAD Solidworks programında hazırladık. Tasarımımız Volkswagen X11 modelinden ve 24 Hours of Le Mans yarışında yarışan araçlardan esinlenmiştir. Aracın arka tekerleklerinin üstü aerodinamik olması için kapatılmıştır.

Resim-10 Üç boyutlu yazıcıdan basılacak prototip araç dizaynı



5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Şeker Sorgum Otu üretimi ucuz ve verimli bir biyokütledir. Gelişmiş kök yapısı sayesinde gübre ve su isteği azdır. Bol güneşli çukurova bölgemizde senede 3 kez hasat edilebilir, mikroorganizmalar için iyi bir substrattır. MYH'ler ise; yeşil, güvenli, temiz ve herhangi bir organik atığı elektriğe dönüştüren direkt bir kaynak olarak kabul edilmektedirler (Li vd., 2016:205; Rikame vd., 2012:75).

Verilerin Toplanması ve Analizi -Mikrobiyal yakıt pili hücresi dizaynı ve yazıcıdan basılması				✓		✓	✓		✓	✓
Verilerin Toplanması ve Analizi -Agaroz jel membran üretim çalışmaları					✓	✓				
Verilerin Toplanması ve Analizi -Yakıt pili sisteminin yerleştirileceği prototip oyuncak araç dizaynı ve basımı						✓	✓	✓	✓	✓
Verilerin Toplanması ve Analizi -Mersin üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü ziyareti (<i>Clostridiumbutyricum</i> ve rekombinant <i>Enterobacter aerogenes</i> vb. bakterilerin temin ve karanlık fermentasyon prosesi ile ilgili çalışmalar)									✓	✓
Verilerin Toplanması ve Analizi -Mikrobiyal yakıt pili sisteminde sorgum bitkisi özütü ve mikroorganizmalar ile elektrik üretim prosesi									✓	✓
Proje Raporu Yazımı					✓			✓	✓	

8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

Sorghum bicolor bitkisinden mikroorganizmalar yardımıyla Mikrobiyal Yakıt Hücrelerinde (MYH) üretilen elektrik ile ülkemizin; dışa bağımlılığını azaltarak, kendi kendine yetebilecek enerji üretim kapasitesine sahip olabilmesi, ülke ekonomisine ciddi oranda katkıda bulunabilmesi, enerji tarımının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

9. Riskler

Sorghum sudan otu biyoetanol üretiminde; hızlı büyümesi, içerdiği yüksek şeker oranı, az gübre-su ihtiyacı sebebiyle şeker pancarı ve mısır gibi insan beslenmesinde önemli rol oynayan tarımsal ürünlerin yerini alabilir.

Saplardan ezilerek alınan özsu doğrudan fermantasyona alınmıştır. Ancak kalan sap ve yapraklar

hala yüksek oranda şeker içermektedir. Bu organik kısım da karanlık fermentasyon prosesine alınabilir.

Yakıt Pili sistemi, araştırmaların daha yoğun olarak yapılması gereken teknolojik bir alandır. Ülkemizde, proton değişim membranı üretimi konusunda yatırımlar yapılmalıdır. Vergi ve gümrük işlemleri sebebiyle araştırmalarımızda kullanmak istediğimiz Nafion Membran siparişini veremedik. Çeşitli membranlar ya da elektrolitler kullanılabilir.

Karanlık fermentasyon sonucu elde edilen asetat gibi değerli organik atıklar ve fotosentetik bakterilerin kullanıldığı hibrit yakıt pili sistemi geliştirilmelidir. Yakıt pili hücresi kalıplarının dış kısmı güneş enerjisi panelleri ile desteklenerek elektrik eldesi arttırılabilir.

10. Kaynakça ve Rapor Düzeni

Eren, Ö. 2011. Çukurova bölgesinde tatlı sorgum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) üretiminde yaşam d.ngüsü enerji ve çevresel etki analizi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Makinaları Anabilim Dalı, Doktora Tezi.1-196.

Demirbaş, A., 2009. Biofuels from agricultural biomass. Energy Sourcess, Part A, 31:1573-1582.

Özer, Z., 1996. Bitkilerdeki gizli gü., biyokütle enerjisi. Bilim ve Teknik Dergisi. (342), 56-61.

BAYRAM, G., TURGUT İ., 2015 U. Ü. ZİRAAT FAKÜLTESİ DERGİSİ, 2015, Cilt 29, Sayı 1, 147-155 (Journal of Agricultural Faculty of Uludag University)

Martin J, Leonard W and Stamp D, 1976. Principles of Field Crop Production, Collier McMillan Publishers: 383-404.

AKGÜN, N., ACAR, R., 2008 ŞEKER KOCA DARISI (*Sorghum bicolor* (L.) Moench var. saccharatum)'NİN DANE VERİM VE VERİM ÖĞELERİNE FARKLI AZOT DOZLARININ ETKİSİ Selçuk Üniversitesi

Ziraat Fakültesi Dergisi 22 (46): (2008) 36-42 ISSN:1300-5774

Anonim 2018 <http://www.yegm.gov.tr>

ÇEÇEN, S., ÖTEN, M., ERDURMUŞ, C., 2005 BATI AKDENİZ SAHİL KUŞAĞINDA SORGUM (*Sorghum bicolor* L.) , SUDANOTU (*Sorghum sudanense* Staph.) VE MISIRIN (*Zea mays* L.) İKİNCİ ÜRÜN OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ ZİRAAT FAKÜLTESİ DERGİSİ, 2005, 18(3), 337-341

YILMAZ, A , ÜNVAR, S , EKMEN, M , AYDIN, S . (2017). YAKIT PİLİ TEKNOLOJİSİ. *Technological Applied Sciences* , 12 (4) , 185-192 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/nwsatecapsci/issue/31523/339487>

BERG, H., NYMAN, J., ERLANDSSON P., JOHANSSON P., MATIC A., 2015 *Direct Ethanol Fuel Cells: Ethanol for our future fuel cells?* ISBN 978-91-7673-137-6 | © 2015 ENERGIFORSK

THAMES & KOSMOS Fuel Cell X7 HYDROGEN POWERED CAR -Instruction Manual

N. GENÇ* Kocaeli Üniv., Mühendislik Fak., Çevre Müh. Böl., İZMIT. BAÜ FBE Dergisi Cilt:11, Sayı:2, 17-36 Aralık 2009 Biyolojik hidrojen üretim prosesleri <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/223763>

Ayşe Şebnem ERENLER, Esra Nezafed ÜLKE, Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi Cilt 8 Sayı 2/2 (2018), Mikrobiyal Yakıt Hücre Teknolojisini Kullanarak Gıda Endüstrisi Atıklarından Elektrik Enerjisi Üretimi

Gamze FIRAT, ANKARA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÜKSEK LİSANS TEZİ, BİYOHİDROJEN ÜRETİMİNDE DİNAMİK ANALİZ Ankara 2009.

Yasemin Hilal Dege, Ümmihan Danış, Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi, Sayı 3(3): 128-140 (2020) Mikrobiyal Yakıt Hücresi Teknolojisini Kullanarak Atıksu Arıtımı ve Biyoenerji Üretimi: Literatür Araştırması

Petra Muri, Ilja Gasan Osojnik Crnivec, Petar Djinovic and Albin Pintar, Acta Chim. Slov. 2016, 63, 154–164 Biohydrogen Production from Simple Carbohydrates with Optimization of Operating Parameters

EKLER Ek-1 Agarož jel hazırlanması prosedürü

BIO 572L

Wednesday, 9/13/2006

Protocol 3: DNA Agarose Gel Electrophoresis

1. Equilibrate a water bath at about 50 °C.
1. Make 400 ml of 1 X TAE buffer by diluting 10 ml TAE with 490 ml deionized water.
2. Measure 50 ml of 1 X TAE buffer and pour it into a 50 ml glass flask.
3. Weight out 0.7 grams of electrophoresis grade agarose and add it to 50 ml of 1 X TAE buffer solution in the flask and swirl it gently.
4. Heat the mixture in a microwave for 1 min at high power and swirl it. **Be careful!** The bottle now becomes hot. Use paper towels to protect your hands.
5. It takes ~15 min for the temperature of the gel to cool to 50 °C. Swirl the agarose occasionally while it cools down.
6. Make a gel tray by sealing the two ends of the plastic tray using paper tapes. Test it to see if it has any leak using water.
7. Pour off water and dry the tray with Kimwipes.
8. Place the comb in the slots on one end of the tray.
9. Remove the melted agarose from the water bath and wipe the flask with paper towel.
10. Add 2.5 µl of ethidium bromide into the agarose gel and swirl immediately. Dispose the ethidium bromide –contaminated gel in the designated bottle.
11. Pour the gel into the tray and let it solidify for 30 minutes.
12. Remove the comb from the gel.
13. Take off the tapes at the ends.
14. Place the tray in an electrophoresis chamber so that the ends of the gel are open to the chambers on either side of the chamber.
15. In a microcentrifuge tube, mix 10 µl of the plasmid DNA (you prepared last week) with 2 µl 6 X loading dye.
16. Pipet 10 µl of the DNA sample into a well of your gel.
17. Record the order of your samples on your notebook.